



TITLE:

# レドックス調節因子チオレドキシ ン結合タンパク質による老化・増 殖制御の解析

AUTHOR(S):

淀井, 淳司

---

CITATION:

淀井, 淳司. レドックス調節因子チオレドキシ  
ン結合タンパク質による  
老化・増殖制御の解析. 2006

ISSUE DATE:

2006-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/81850>

RIGHT:

学術雑誌掲載論文の抜き刷り、出版社に著作権許諾が得られていない  
ため未掲載。

# レドックス調節因子チオレドキシン結合 タンパク質による老化・増殖制御の解析

15209015

平成15年度～平成17年度 科学研究費補助金

基盤研究（A）研究成果報告書

京都大学図書

平成18年4月



1060665233

著者 淀井淳司

附属図書館

京都大学ウイルス研究所教授

## はしがき

本研究(研究課題名:レドックス調節因子チオレドキシシン結合タンパク質による老化・増殖制御の解析)は文部科学省科学研究費補助金(基盤研究(A)(2))の支援を受け、平成15、16、17年度の3年間にわたって行われた。

TBP-2 (Thioredoxin binding protein 2)は、細胞内の主要な還元タンパク質であるチオレドキシシン(Thioredoxin; TRX)の結合タンパク質として当研究室において同定された。生化学的解析から、TBP-2はTRXのnegative regulatorとして報告したが、この生体内における役割については不明であった。本研究では、分子生物学、細胞生物学的手法、およびTBP-2の遺伝子改変動物の作成を通して、TBP-2の機能解析を行った。

本研究により、TBP-2のノックアウトマウスおよびトランスジェニックマウスを作成することができた。TBP-2の分子生物学的解析、およびこれらの遺伝子改変動物を用いた研究より、TBP-2遺伝子は癌抑制、糖・脂質代謝制御、免疫制御に必須の役割を示すことを明らかにすることができた。さらに、TBP-2が老化と関連することを示す知見も得られつつある。

TBP-2に関する基盤的研究は、癌抑制、糖尿病や高脂血症、メタボリックシンドロームのための新たな予防策や治療方法の開発につながることを期待される。さらに、TBP-2はNK細胞の分化や免疫制御にも重要な役割を果たし、これらの機構の解明がウイルスを含む感染症に対する生体防御機構の研究に寄与することが考えられる。また、老化の新たな分子機構の解明に発展する可能性がある。これらのことより、本研究は社会への貢献につながる十分な成果を上げることができたのではないかと考えている。

本研究報告書では、この研究に密接に関連する論文や研究発表の目録を収録し、代表的な論文を採録した。

最後に、本研究の遂行に当って御協力いただいた共同研究者ならびに研究機関の方々に厚く御礼申し上げたい。

平成18年4月

京都大学ウイルス研究所

教授

淀井 淳司

## 研究組織

研究代表者 : 淀井淳司 (京都大学・ウイルス研究所・教授)  
研究分担者 : 中村肇 (京都大学・医学部附属病院・助教授)  
研究分担者 : 増谷弘 (京都大学・ウイルス研究所・助教授)  
研究分担者 : 鍋島陽一 (京都大学・大学院医学研究科・教授)  
(研究協力者 : 広田喜一 )

## 交付決定額 (配分額)

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 1 5 年度	14,600,000	4,380,000	18,980,000
平成 1 6 年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
平成 1 7 年度	12,200,000	3,660,000	15,860,000
総 計	39,000,000	11,700,000	50,700,000

## 研究発表

### (1) 学会誌等

#### 1. 論文発表 (原著)

2006

1) Oka S, Liu W, Masutani H, Hirata H, Shinkai Y, Yamada S, Yoshida T, Nakamura H, Yodoi J.

Impaired fatty acid utilization in thioredoxin binding protein-2 (TBP2)-deficient mice: a unique animal model of Reye syndrome.

FASEB J. 20: 121-123, 2006

2) Ahsan MK, Masutani H, Yamaguchi Y, Kim YC, Nosaka K, Matsuoka M, Nishinaka Y, Maeda M, Yodoi J.

Loss of interleukin-2-dependency in HTLV-I-infected T cells on gene silencing of thioredoxin-binding protein-2.

Oncogene 25, 2181-2191, 2006

3) Shin-ichi Oka, Hiroshi Masutani, Wenrui Liu, Hiroyuki Horita, Dongmei Wang, Shinae Kizaka-Kondoh, Junji Yodoi.

Thioredoxin-binding protein-2 (TBP-2)-like inducible membrane protein (TLIMP) is a novel Vitamin D3 and PPAR- $\gamma$  ligand target protein that regulates PPAR- $\gamma$  signaling

Endocrinology. 147 (2):733-43, 2006. Epub 2005 Nov 3.

4) Wang D, Masutani H, Oka S, Tanaka T, Yamaguchi-Iwai Y, Nakamura H, Yodoi J.

Control of mitochondrial outer membrane permeabilization and Bcl-xL levels by thioredoxin 2 in DT40 cells.

J. Biol. Chem. 281: 7384-7391, 2006.

5) Son A, Nakamura H, Kondo N, Matsuo Y, Liu W, Oka S, Ishii Y, Yodoi J.

Redox regulation of mast cell histamine release in thioredoxin-1 (TRX) transgenic mice.

Cell Research 16: 230-239, 2006.

## 2005

1) Tanito M, Kwon Y-W, Kondo N, Bai J, Masutani H, Nakamura H, Fujii J, Ohira A, Yodoi J.

Cytoprotective effects of geranylgeranylacetone against retinal photooxidative damage.

**J. Neurosci.** 25: 2396-2404, 2005.

2) Ahsan MK, Nakamura H, Tanito M, Yamada K, Utsumi H, Yodoi J.

Thioredoxin-1 suppresses lung injury and apoptosis induced by diesel exhaust particles (DEP) by scavenging reactive oxygen species and by inhibiting DEP-induced down regulation of Akt.

**Free Radic. Biol. Med.** 39: 1549-1559, 2005.

3) Dutta KK, Nishinaka Y, Masutani H, Akatsuka S, Aung TT, Shirase T, Lee WH, Yamada Y, Hiai H, Yodoi J, Toyokuni S.

Two distinct mechanisms for loss of thioredoxin-binding protein-2 in oxidative stress-induced renal carcinogenesis.

**Lab Invest.** 85:798-807, 2005.

4) Okuyama H, Nakamura H, Shimahara Y, Kwon Y-W, Kawada N, Yamaoka Y, Yodoi J.

Overexpression of thioredoxin prevents thioacetamide-induced hepatic fibrosis in mice

**J. Hepatol.** 42: 117-123, 2005.

## 2004

1) Nishinaka Y, Masutani H, Oka S, Matsuo Y, Yamaguchi Y, Nishio K, Ishii Y, Yodoi J:

**Importin alpha1 (Rch1) mediates nuclear translocation of thioredoxin-binding protein-2/vitamin D(3)-up-regulated protein 1.**

**J. Biol. Chem. 279: 37559-37565, 2004.**

2) Nishinaka Y, Nishiyama A, Masutani H, Oka S, Ahsan KM, Nakayama Y, Ishii Y, Nakamura H, Maeda M, Yodoi J:

**Loss of thioredoxin binding protein-2/vitamin D3 up-regulated protein 1 (TBP-2/VDUP1) in HTLV-I-dependent T-cell transformation: Implications for adult T-cell leukemia leukemogenesis.**

**Cancer Res. 64: 1287-1292, 2004.**

3) Liu W, Nakamura H, Shioji K, Tanito M, Oka S, Ahsan KM, Kishimoto C, Son A, Ishii Y, Yodoi J.

Thioredoxin-1 ameliorates myosin-induced autoimmune myocarditis by suppressing chemokine expressions and leukocyte chemotaxis in mice.

**Circulation 110: 1276-1283, 2004.**

4) Bai J, Nakamura H, Ueda S, Kwon Y-W, Tanaka T, Ban S, Yodoi J.

Proteasome-dependent degradation of cyclin D1 in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+)-induced cell cycle arrest.

**J. Biol. Chem. 279: 38710-38714, 2004.**

5) Hattori I, Takagi Y, Nakamura H, Nozaki K, Bai J, Kondo N, Sugino T, Nishimura M, Hashimoto N, Yodoi J.

Intravenous administration of thioredoxin decreases brain damage following transient focal cerebral ischemia in mice.

**Antiox. Redox Signal. 6: 81-87, 2004.**

6) Matsuo Y, Nishinaka Y, Suzuki S, Kojima M, Kizaka-Kondoh S, Kondo N, Son A, Sakakura-Nishiyama J, Yamaguchi Y, Masutani H, Ishii Y, Yodoi J.

TMX, a human transmembrane oxidoreductase of the thioredoxin family: the possible role in disulfide-linked protein folding in the endoplasmic reticulum.

**Arch Biochem Biophys.** 423: 81-87, 2004.

7) Kasuno K, Nakamura H, Ono T, Muso E, Yodoi J.

Protective roles of thioredoxin, a redox-regulating protein, in renal ischemia/reperfusion injury.

**Kidney Int.** Oct;64(4):1273-82, 2003.

8) Okuyama H, Nakamura H, Shimahara Y, Araya S, Kawada N, Yamaoka Y, Yodoi J.

Overexpression of thioredoxin prevents acute hepatitis caused by thioacetamide or lipopolysaccharide in mice.

**Hepatology.** May;37(5):1015-25, 2003

## **2. 論文発表 (Review)**

1) Masutani H, Ueda S, Yodoi J.

The thioredoxin system in retroviral infection and apoptosis.

**Cell Death Differ.** 12 Suppl 1:991-8, 2005.

2) Yoshida T, Nakamura H, Masutani H, Yodoi J.

The involvement of thioredoxin and thioredoxin binding protein 2 on cellular proliferation and the aging process.

**Annu. N. Y. Acad Sci.** 1055: 1-12, 2005.

3) Nakamura H.

Thioredoxin and its related molecules; update 2005.

**Antioxid. Redox Signal.** 7: 823-828, 2005.



## (2) 口頭発表

### 1. 国際学会

Yodoi J.

Leukemogenesis by HTLV: Overview.

The XXII Symposium of the International Association for Comparative Research  
Leukemia and Related Diseases, Heidelberg, Germany, July 2-5, 2005

Yodoi J., Kondo N, Yoshida T, Nakamura H., Masutani H.

Redox Regulation of cell signaling via lipid rafts by Thioredoxin and Thioredoxin  
binding protein-2 (TBP2)/VDUP-1 system.

IV Meeting of the South American Group of the Society for Free Radical Biology and  
Medicine, Sao Paulo, Brazil, June 29-July 2, 2005.

Yodoi J.

Role of lipid rafts in TRX-dependent redox regulation of activated T cells.

13th Symposium on Signals and Signal Processing in the Immune System,  
Balatonöszöd, Hungary, September 7-11, 2005.

Masutani H., Ahsan MK, Oka S, Yoshida T, Yodoi J.

Thioredoxin binding proteins: Role for cancer protection. Oxidants and Antioxidants in  
Biology, Annual Meeting of the Oxygen Club of California, Alba, Italy, September 7-10,  
2005.

Yodoi J., Kondo N, Yoshida T, Nakamura H., Masutani H.

Regulation of cellular redox signaling and growth by thioredoxin and thioredoxin  
binding protein-2.

Sixth International Conference of the Society for Free Radical Research-Africa,  
Tétouan, Morocco, September 26-29, 2005.

Yodoi J., Kondo N, Yoshida T.

Redox regulation of lipid rafts-mediated transport and clinical application by  
TRX/TBP2 system.

The Annual Meeting of the International Society for Interferon and Cytokine Research,

Shanghai, China, October 20-24, 2005.

Masutani H, Nishinaka Y, Ahsan Md K, Oka S, Yamaguchi Y, Kim YC, Yodoi J.

Gene regulation of thioredoxin and thioredoxin binding protein-2.

1st International Redox Network, Stockholm, Sweden, June 9, 2004

Yodoi J, Hara T, Kondo N, Masutani H, Nakamura H.

The cellular function of thioredoxin and thioredoxin binding protein 2 on cellular growth and lipid metabolism

1st International Drug Discovery Science and Technology, Beijing, China, November 1-10, 2004

Yoshida T, Masutani H, Nakamura H, Yodoi J.

Thioredoxin binding protein-2 transgenic mice - Implications of aging phenomena in vivo.

International Redox Network Kyoto 2005, Kyoto, Japan, November 9-11, 2005.

Yodoi J, Kondo N, Masutani H, Nakamura H.

Thioredoxin/TRX-dependent redox regulation of inflammatory process.

The Annual Meeting of Korean Society of Pharmaceutical Sciences, Seoul, Korea, November 27-29, 2005.

Masutani H, Wang D, Oka S, Yodoi J.

Redox regulation by thioredoxin and TBP-2.

Third joint meeting of the society for free radical research Australasia and Japan, Gold coast, Australia, December 2-5, 2005.

## 2. 国内学会

Ahsan MK, 山口佳美、前田道之、松岡雅雄、淀井淳司、増谷 弘 :

HTLV-I 感染細胞と ATL 患者末梢リンパ球での TBP-2 遺伝子のメチル化解析

第 64 回 日本癌学会学術総会 平成 17 年 9 月 14 日—16 日 札幌

岡 新一、劉 文瑞、増谷 弘、平田晋三、眞貝洋一、山田秀一、吉田徹、中村 肇、淀井淳司 :

チオレドキシン結合タンパク質 (TBP-2) は絶食時の肝機能維持に必須の役割を果たす新たな糖・脂質代謝制御因子である

第 2 回 酸化ストレスと肝研究会 平成 17 年 10 月 29—30 日 福岡

Tan A, Oka S, Mochizuki M, Masutani H, Yodoi J :

Thioredoxin-binding protein-2 (TBP-2)-like protein associated with spliceosome (TLAS) is a novel growth repressor and colocalizes with a splicing factor SC35.

第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 7 日—10 日 福岡

増谷 弘、岡 新一、Ahsan MK、王 冬梅、淀井淳司 :

Thioredoxin および Thioredoxin binding protein-2 によるレドックスシグナリング調節

第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 7—10 日 福岡

吉田徹、岡 新一、猪俣泰也、増谷 弘、中村 肇、淀井淳司 :

Thioredoxin binding protein-2 高発現マウスにおける白色脂肪組織の減少とエネルギー代謝の変動

第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 7 日—10 日 福岡

孫 安生、石井保之、近藤則彦、岡 新一、吉田 徹、中村 肇、増谷 弘、淀井淳司

Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2) による樹状細胞の機能制御

第 35 回日本免疫学会総会 平成 17 年 12 月 13—15 日 横浜

増谷 弘、Md. Kaimul Ahsan, 岡 新一、権 容源、西中由美子、山口佳美、前田道之、淀井淳司 :

TBP-2/VDUP-1 遺伝子サイレンシングによる HTLV-I transformation/発癌の進展 第 63 回日本癌学会総会 平成 16 年 9 月 29 日-10 月 1 日 福岡

淀井淳司、吉田 徹、岡 新一、増谷 弘、中村 肇

チオレドキシン・チオレドキシン結合タンパク質によるストレス応答・寿命制御

第 26 回日本基礎老化学会シンポジウム 平成 16 年 11 月 6 日 東京

Ahsan MK, Masutani H, Kim YC, Maeda M, Nosaka K, Matsuoka M, Nishinaka Y, Yodoi J:

Role of TBP-2 gene silencing in IL-2-independent growth of HTLV-I-transformed T-cells.

第 34 回日本免疫学会 平成 16 年 12 月 1-3 日 札幌

吉田 徹、孫 安生、松尾禎之、岡 新一、近藤則彦、増谷 弘、中村 肇、淀井淳司

thioredoxin binding protein-2 高発現遺伝子改変マウスの作製とその解析

第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 8-11 日 神戸

岡 新一、増谷 弘、劉 文瑞、淀井淳司 :

Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2)/Vitamin D3 up-regulated protein 1 (VDUP1)ファミリータンパク質 TBP-2/VDUP1  $\beta$  の peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  による誘導と細胞増殖制御

第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 8-11 日 神戸

### (3) 出版物

1) 増谷 弘、淀井淳司

レドックスとストレスシグナル

別冊 医学のあゆみ レドックス—ストレス防御の医学  
pp4-8, 2005

2) 中村 肇

レドックス臨床医学—総論—

別冊 医学のあゆみ レドックス—ストレス防御の医学  
pp80-82, 2005

3) 淀井淳司、中村 肇

チオレドキシンと酸化ストレス応答

酸化ストレスと肝疾患 (第1輯)

pp53-57, 2005

### 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

無し

## 研究内容

TBP-2 (Thioredoxin binding protein 2)は、細胞内の主要な還元タンパク質であるチオレドキシン(TRX)の結合タンパク質として当研究室において同定された。生化学的解析から、TBP-2 は TRX の negative regulator として報告したが、この生体内における役割については不明であった。本研究では、分子生物学、細胞生物学的手法、および TBP-2 の遺伝子改変動物の作成を通して、TBP-2 の機能解析を行った。

## 研究成果

### <TBP-2 による細胞増殖制御>

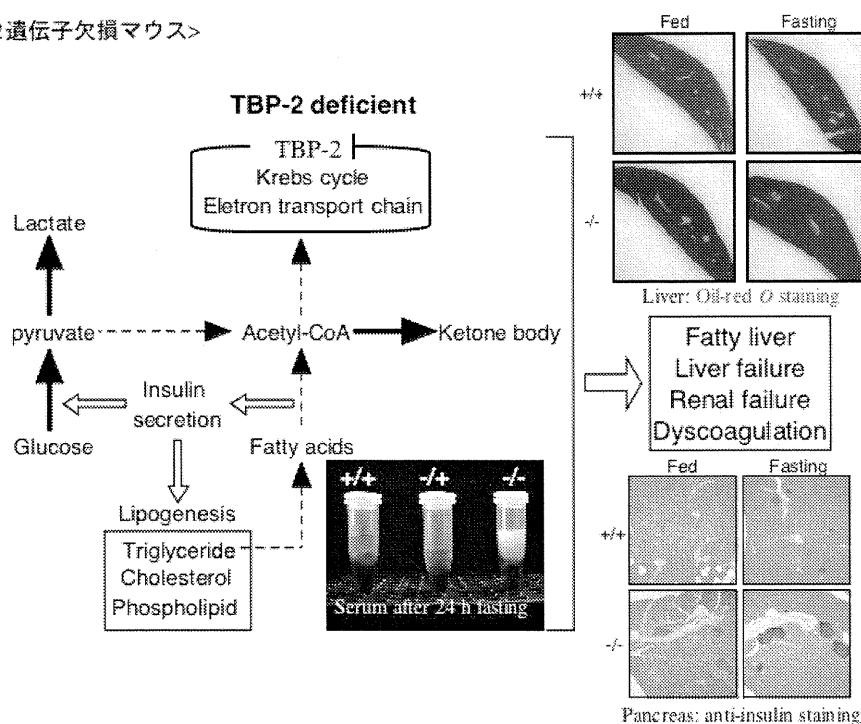
我々は、ヒト TRX が、HTLV-1 感染細胞において、高発現していることを報告してきた。HTLV-1 感染細胞における TBP-2 の発現量を解析したところ、HTLV-1 の感染細胞では TBP-2 の発現量が著しく減少していることを見出した。この細胞に TBP-2 を大量発現させると細胞増殖が抑制され、TBP-2 がガン抑制因子的な性格を持って機能していることが示唆された。TBP-2 を発現した細胞では、p16 の発現上昇を介した RB タンパク質の脱リン酸化が誘導されており、TBP-2 による細胞増殖抑制の分子機能の一つを明らかにした (Nishinaka et al. Cancer Res., 2004)。さらに、この HTLV-1 感染細胞における TBP-2 の遺伝子のサイレンシングには、TBP-2 遺伝子のプロモーター領域の DNA のメチル化、ヒストンの脱アセチル化が関与することを明らかにした。このときの TBP-2 の発現量の変化は、HTLV-1 感染細胞の増殖における IL-2 依存性を制御することを示した (Ahsan et al. Oncogene, 2006)。



### <TBP-2 遺伝子欠損マウス>

TBP-2 の生体内における機能を明らかにするため、TBP-2 遺伝子のノックアウトマウスを作成し解析を行った。TBP-2 KO マウスは、生存および生殖可能であり通常の飼育条件下では、顕著な異常は観察されなかったが、絶食下では、生存率が低下し、このとき同時に血尿、消化管出血といった顕著な出血傾向を示すことが明らかとなった。プロトロンビン時間延長などの血液凝固異常が観察され、絶食時の出血傾向の原因の一つと考えられた。また、TBP-2KO マウスは、絶食時に血清中のトリグリセリド、コレステロールなどの脂肪成分の上昇、高インスリン血症に起因する低血糖などの糖・脂質代謝異常を示すことを明らかにした。さらに、これらの原因として、クエン酸サイクルの不全によるアセチル CoA の利用障害が TBP-2KO マウスにおいて存在することを明らかにした。TBP-2KO マウスのこのような表現型は、ミトコンドリア機能の不全によってもたらされるヒトの Reye 症候群と類似しており、このモデルマウスの有用性が示された (Oka et al. FASEB J. 2005)。

#### <TBP-2 遺伝子欠損マウス>



### <TBP-2 トランスジェニック(TG)マウス>

TRX の過剰発現マウスは長寿となる。生体の老化における酸化ストレスの重要性は良く知られているため、TRX の negative regulator である TBP-2 の過剰発現



は、個体の老化に影響を与える可能性が考えられた。そこで、TBP-2 の過剰発現が生体に及ぼす影響を調べるため、TBP-2 過剰発現(TBP-2TG)マウスを作成し解析を行った。TBP-2TG マウスは、血清中のトリグリセリド、コレステロールなどの脂肪成分の低下、高血糖などの糖・脂質代謝異常を示すことを明らかにした。これらの表現型は、TBP-2KO マウスと鏡像関係にあり、これらの結果は、TBP-2 が糖の利用を抑え脂質の利用を促進する機能を持つことを示唆しており、絶食時などにエネルギー源を糖から脂質へ移行する上で重要な役割を担っていると考えられた。また、TBP-2TG マウスは、ラインによって体重および体脂肪の減少、背骨のわん曲等の骨異常などの老化類似症状を呈するものがあり、これらについては老化モデルマウスとしての有用性を調べるために引き続き研究を行っている (Yoshida et al. manuscript in preparation)。

<TBP-2トランスジェニック(TG)マウス>



#### <TBP-2 ファミリー遺伝子の解析>

ほ乳類においては、3 つの TBP-2 相同遺伝子が存在することが明らかとなっている。しかし、TBP-2 以外のそれらファミリー分子については、その機能は全く未知であった。我々は、TBP-2 ファミリーの生体内機能を調べるため、この中の一つ、TBP-2-like inducible membrane protein (TLIMP) をクローニングし解析を行った。TLIMP は、TBP-2 とは異なり、TRX とは結合しない。また、TBP-2 が核タンパク質であるのに対して、TLIMP は細胞膜、エンドソーム、リソソームなどの膜輸送に伴った局在を示すことを明らかにした。また、TLIMP は、TBP-2 と同様に Peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)やビタミン D の下流で発現が誘導されるタンパク質であり、細胞増殖抑制能を持つことを見出した。さらに TLIMP は、リガンド依存的な PPAR の活性化を抑制することから、PPAR のネガティブフィードバック制御因子であることが示唆された (Oka et al. Endocrinology, 2006)。

